

اثر عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera L.*) در بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و نوروتروفین BDNF پس از ضایعه فشاری طناب نخاعی در موش‌های بزرگ

مرجان حشمتی^{۱*}، محمدرضا جلالی ندوشن^۲ و شهرزاد فخریه^۳

۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

پست الکترونیک: heshmati@shahed.ac.ir و heshmatimarjan@hotmail.com

۲- استاد، گروه علوم تشریح و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۳- دانش‌آموخته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۱

چکیده

به منظور ارزیابی اثر عصاره آبی آلوئه‌ورا (*Aloe vera L.*) در حیات سلول‌های عصبی حرکتی، بیان گیرنده مرگ ($P75^{NTR}$) و نوروتروفینمنتج از مغز) BDNF مورد بررسی قرار گرفت. ۲۴ موش بزرگ بالغ ماده نژاد اسپراگ داوولی از انستیتو رازی تهیه شد. حیوانات به ۴ گروه: ۱- لامینکتومی (مهره ۹-۱۱ پشتی) و تزریق عصاره آبی آلوئه‌ورا، ۲- لامینکتومی و تزریق عصاره آبی آلوئه‌ورا به همراه فشار بر نخاع، ۳- لامینکتومی و تزریق سرم فیزیولوژی و ۴- لامینکتومی و تزریق سرم فیزیولوژی به همراه اعمال فشار بر نخاع تقسیم شدند. تزریقات روزانه و داخل صفاقی به مدت ۴ هفته انجام گردید. پس از گذشت ۴ هفته موش‌ها کشته شدند. شمارش سلول‌های عصبی حرکتی نخاع و مورفومتري انجام شد. بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و BDNF به روش ایمنوهیستوشیمیایی بررسی شد. نتایج مطالعات شمارش سلول‌های عصبی حرکتی نخاع و مورفومتري، حکایت از کاهش به همراه خونریزی و ایجاد حفره در لابه‌لای سلول‌های بافت نخاع بدنبال فشار مکانیکی داشت. عصاره آبی آلوئه‌ورا سبب کاهش مرگ سلول‌های عصبی حرکتی ($p \leq 0.05$) به همراه افزایش بیان BDNF گردید ($p \leq 0.05$)؛ باوجود افزایش بیان گیرنده $P75^{NTR}$ در گروه دوم، سبب کاهش معنی‌دار مرگ سلول‌های عصبی گردید ($p \leq 0.05$) که می‌تواند ناشی از نقش دوگانه گیرنده و خواص متعدد و متنوع گیاه آلوئه‌ورا باشد. البته اثر ایمنو مدولاتوری نیز به‌گونه‌ای نقش متعدد آلوئه‌ورا و حیات یا مرگ سلول‌های عصبی در زمان‌های مختلف نقش دوگانه گیرنده $P75^{NTR}$ را همانند نتایج تحقیق حاضر مطرح می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ضایعات مکانیکی طناب نخاع، عصاره آبی آلوئه‌ورا (*Aloe vera L.*)، گیرنده مرگ ($P75^{NTR}$)، نوروتروفینمنتج از مغز (BDNF).

مقدمه

مطرح است (Hulsebosch, 2002). به‌نحوی که بدنبال اتصال لیگاند به گیرنده‌های غشای سلول عصبی آبشاری وقایع درون سلولی در سطح مولکولی رخ می‌دهد (Akhtar et al., 2009). به‌عنوان مثال، در دوران رشد و نمو موجودات زنده ساختمان‌های زیادی تشکیل می‌شود که متعاقباً به‌وسیله مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوز حذف می‌شوند. این پدیده فیزیولوژیک در تمام مراحل

در بررسی بعمل آمده تصادفات و ترومای حاد عامل بسیاری از مرگ و میرها است. به‌طوری‌که تا سی سال پیش این‌گونه تصور می‌شد که راه مؤثری برای بهبود وضعیت افرادی که دچار ضایعات نخاعی می‌شوند وجود ندارد، اما اخیراً با پیشرفت‌های شگرف در حیطه علوم پایه پزشکی امید بهبودی و پیشرفت درمان در این دسته از بیماران نیز

می‌کند. به گونه‌ای که از یک طرف سبب حفظ نورون، تکثیر، مهاجرت، تمایز، رشد و ادامه روند چرخه سلولی، از سوی دیگر با جلوگیری از موارد فوق سبب آپوپتوز و از بین رفتن سلول خاص می‌شوند (Dolan et al., 1995).

یکی از انواع گیرنده‌ها $P75^{NTR}$ است، که می‌توان اعمال زیر را به آن نسبت داد: همکاری با گیرنده‌های تیزوزین کیناز A، B و C (Trk-A, Trk-B, Trk-C) مهاجرت سلول شوان، انتقال سیناپسی، تنظیم فعالیت نرون حسی، تنظیم تمایز سلول‌های مربوطه، تنظیم جریان یون کلسیم و مرگ آپوپتوزی سلول (Xie et al., 2003). با اتصال نروتروفین‌های NGF، BDNF، NT4/5 و NT-3 به گیرنده $P75^{NTR}$ ، دایمر شدن دو مولکول $P75^{NTR}$ رخ می‌دهد و بدین ترتیب آنها توانایی فسفریله کردن همدیگر را بدست می‌آورند؛ بدنبال آن فعال شدن پروتئین Ras و MAPKs (Mitogen activated protein) صورت می‌گیرد و پس از فسفریله شدن آنها سگینالی آبخاری هزاران پروتئین درون سلولی را فسفریله می‌کند (Ameloot et al., 2001). علاوه بر این، ترکیب گیرنده‌های Trk و $P75^{NTR}$ نیز کمپلکس‌های پیچیده‌ای می‌سازند که هر کدام از حالت‌های کمپلکس کنش و واکنش ویژه و اختصاصی را به همراه تغییر ساختار گیرنده در پی دارد (Ibanez & Simi, 2012).

به‌منظور تلفیق این مطالعه با طب گیاهی مطالعات زیادی در گروه طب سنتی دانشگاه شاهد انجام شده‌است و در نهایت از بین گونه‌های مختلف گیاهی، گیاه آلوئه‌ورا انتخاب گردید (Heshmati et al., 2013). این گیاه دارای تاریخچه بسیار قدیمی و کاملی در طب پزشکی بشر از قرن پنجم میلادی تا به امروز است (Loots du et al., 2008).

برای بررسی اثر نوروپروتکتیوی عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا از طریق تأثیر بر روی فعالیت گیرنده‌ها فرضیه‌ای مطرح شد مبنی بر اینکه: آیا گیاه آلوئه‌ورا خاصیت نوروپروتکتیوی دارد؟ آیا این تأثیر از طریق مکانیسم گیرنده $P75^{NTR}$ در سطح غشاء سلول اعمال می‌گردد؟ با در نظر گرفتن این فرضیات ایده‌ای طراحی شد که هدف از انجام آن تعیین نقش گیرنده و ارائه راهکارهای لازم و منطقی در کاهش و یا به حداقل رساندن فعالیت گیرنده است.

زندگی مهره‌داران ادامه می‌یابد و نقش مهم و حیاتی این مکانیسم چند سالی است که مورد توجه محققان قرار گرفته است. البته در طی دوران تکوین پستانداران، تقریباً نیمی از سلول‌های عصبی سیستم اعصاب مرکزی و محیطی دستخوش این فرایند می‌شوند. در نهایت قسمت‌های مختلف این سیستم باقی مانده و رشد و تمایز طبیعی را می‌یابند (Jacobson et al., 1997). امروزه معتقدند تمام سلول‌های موجودات پرسلولی دارای برنامه مرگ سلولی آپوپتوزی‌اند، اما سیگنال‌های محیطی بقاء، از فعال شدن این برنامه جلوگیری می‌کند (Liu et al., 1997). بنابراین نقش کلیدی آپوپتوز در بیشتر اختلالات رشد و نمو و بیماری‌های انسان مطرح می‌گردد. آپوپتوزیس ناکافی موجب اختلالات خودایمنی و سرطان و آپوپتوزیس بیش از حد موجب اختلالات دژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر و پارکینسون می‌شود، به همین دلیل شناخت جنبه‌های مولکولی این فرایند و نیز نحوه و چگونگی کنترل این فرایند دارای ارزش کلینیکی بالایی است (Le & Gean, 2009). حال این سؤال مطرح است که چه فاکتورها یا سیگنال‌هایی مرگ برنامه‌ریزی شده را به‌طور طبیعی در دستگاه عصبی باعث شده و کنترل این وقایع را به‌عهده دارند. مکانیسم اثر این فاکتورها چگونه است؟ یکی از تئوری‌های مطرح در حال حاضر تئوری انتقال پس‌نورد (retrograde) فاکتورهای نروتروفینی است. بدین معنی که کاهش اندازه بافت هدف باعث کاهش نورون‌های سیستم عصبی می‌شود و به‌دنبال آن کاهش فاکتورهای نظیر فاکتور رشد عصبی NGF (Nerve growth factor)، BDNF (Brain derived neurotrophic factor)، نروتروفین ۳ (NT-3: Neurotrophin-3) و نروتروفین ۴/۵ (NT-4/5: Neurotrophin-4/5) را در پی دارد (Yu et al., 1999).

تشعشعات امواج ماورای بنفش، بعضی از داروها و ترکیب‌های شیمیایی و ضایعات مکانیکی و ضربه سبب تغییرات عملکردی سیستم عصبی می‌گردد (Chopp et al., 2000). استفاده از ضایعه مکانیکی طناب نخاعی برای القاء آپوپتوز در نورون‌های حرکتی مورد تأیید محققان است. از آنجایی که اتصال نروتروفین‌های NGF، BDNF، NT-4/5 و NT-3 به گیرنده‌های مستقر در غشای سلول بسیار اختصاصی است، این اتصال توانایی‌های مختلف و بعضاً متضادی را برای سلول فراهم

مواد و روشها

۲۴ موش بزرگ بالغ ماده به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم از انستیتو رازی حصارک کرج تهیه گردید. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی در ۴ گروه به تعداد مساوی قرار گرفتند. به‌طوری که در هر گروه ۶ حیوان قرار گرفت که ۳ حیوان برای مطالعات مورفولوژیک و شمارش سلولی و ۳ حیوان برای مطالعات ایمنو هیستوشیمیایی در نظر گرفته شد.

عمل لامینکتومی به‌روی مهره‌های نهم تا یازدهم پستی انجام شد. تمام مراحل تحقیق با توجه به رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شاهد انجام شد.

گروه‌بندی حیوانات

گروه ۱، گروه تحت تیمار با عصاره آبی آلوئه‌ورا ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بود که پس از لامینکتومی این عصاره را هر روز به میزان ۰/۲cc از طریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۲، گروه تحت تیمار با عصاره آبی آلوئه‌ورا ۲/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بود (همانند گروه اول) که به همراه فشار مکانیکی به نخاع به میزان ۳۰ گرم بر واحد سطح به مدت ۱ دقیقه دریافت کردند.

گروه ۳، گروهی که پس از عمل لامینکتومی هر روز ۰/۲cc سرم فیزیولوژی از طریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۴، گروهی که تزریق روزانه ۰/۲cc سرم فیزیولوژی (همانند گروه سوم) به همراه فشار مکانیکی به نخاع به میزان ۳۰ گرم بر واحد سطح به مدت ۱ دقیقه دریافت کردند.

تهیه عصاره آبی آلوئه‌ورا

براساس روشی که قبلاً توسط Farahnejad و همکاران (۲۰۱۱) توصیف شده بود، تهیه شد. به‌طوری که برای ۲/۵mg/kg عصاره آبی آلوئه‌ورا، ۲۵ گرم از ژل وسط برگ را در ۱cc محلول سرم فیزیولوژی تهیه می‌کنیم؛ سپس با گذراندن مخلوط حاصل از میکروفیلتر ۰/۲ میکرومتر در ۳ مرحله، محلول استریل تهیه شد؛ محلول بدست آمده که به‌صورت محلول شفاف زرد رنگی است داخل سرنگ انسولین تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه در محیط یخچال نگهداری شد (Farahnejad et al., 2011).

روش جراحی

ابتدا موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۲۵-۲۰ واحد سرنگ انسولین از محلول ترکیبی کتامین (به میزان ۲cc) و گزیلازین (به میزان ۱/۲۵cc) بیهوش عمیق شده و با شمارش دنده‌های موش مهره ۱۳ پستی مشخص و لامینکتومی مهره‌های نهم تا یازدهم پستی انجام شد.

پس از رؤیت نخاع گیره کلیپس آنوريسم را در طرفین طناب نخاعی به مدت ۱ دقیقه قرار دادیم. سپس محل‌های برش زده شده را بخیه و آنتی‌بیوتیک سفازولین به میزان ۲ واحد از سرنگ انسولین را برای جلوگیری از عفونت مثانه تزریق کردیم (Dolan & Tator, 1979). تزریق روزانه داخل صفاقی عصاره آبی آلوئه‌ورا یا سرم فیزیولوژی پس از عمل لامینکتومی در حیوانات برحسب اینکه مربوط به کدام گروه هستند ادامه یافت.

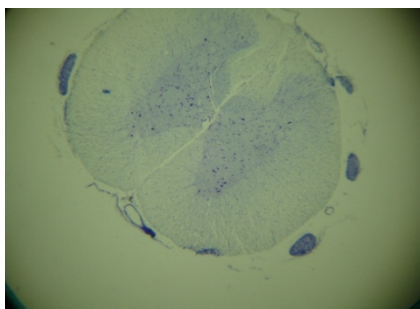
تهیه نمونه‌های بافتی و ایمنو هیستوشیمیایی

نمونه‌های بافتی هر حیوان تهیه گردید. بدین منظور، بعد از گذشت ۲۸ روز یا ۴ هفته از روز عمل لامینکتومی، موش‌ها بی‌هوش عمیق و به‌وسیله پرفیورن قلبی کشته شدند. پس از خروج نخاع مراحل مختلف آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغستگی و قالب‌گیری با پارافین به روش روتین انجام شد (Bancroft & Stevens, 1990). سپس برش‌های ۶ میکرومتری به کمک دستگاه میکروتوم مدل ۸۲۰ لایکا انجام گردید.

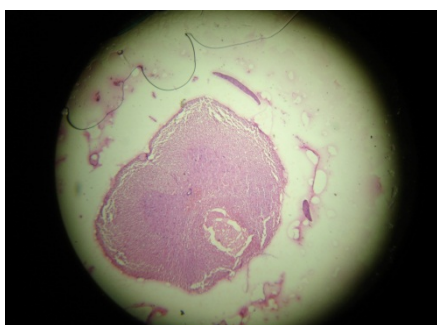
به‌منظور شمارش سلولی و مورفومتری از روش رنگ‌آمیزی کرسیل فست ویولت (۰/۱٪ شرکت مرک آلمان) استفاده گردید. برای تهیه محلول رنگ‌آمیزی ۰/۱ گرم پودر کرسیل فست ویولت با فرمول C17H17CiN3N محصول شرکت Merck در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید که به این ترتیب محلول ۰/۱٪ رنگ بدست آمد. تمام نوره‌های حرکتی که در قسمت قدامی خارجی در هر دو نیمه نخاع قرار دارد در برش‌های سریال با بزرگنمایی X400 میکروسکوپ نوری زایس مورد شمارش قرار گرفتند. با تکنیک روتین هماتوکسیلین اتوزین درصد سلول‌های موجود در این منطقه نیز محاسبه شد.

برای بررسی نوروتروفین BDNF و گیرنده P75^{NTR} از هر بلوک ۲۰ برش به‌صورت تصادفی ساده انتخاب شد. با استفاده از روش ایمنو هیستوشیمی غیرمستقیم دو مرحله‌ای

(شکل ۱). نتایج نشان داد در دو گروهی که علاوه بر لامینکتومی، فشار مکانیکی را نیز دریافت کردند، کاهش سلول‌های عصبی حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع به همراه ایجاد حفره در بین سلول‌ها و خونریزی در لابه‌لای سلول‌ها و داخل این حفرات داشت (شکل ۲).



شکل ۱- برش عرضی از نخاع موش بزرگ بالغ برای نمایش سلول‌های عصبی حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع (با رنگ آمیزی کرسیل فست و یولت و بزرگنمایی ۱۰۰)



شکل ۲- برش عرضی از نخاع موش بزرگ بالغ برای نمایش بافت سفید و خاکستری در پشت کانال مرکزی حفره در بین سلول‌ها و خونریزی در لابه‌لای سلول‌ها و داخل این حفرات مشخص است. (با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و بزرگنمایی ۱۰۰)

نتایج رنگ آمیزی اختصاصی اجسام نیسل حکایت از کروماتولیز شدن و آپوپتوز سلول‌های عصبی حرکتی دارد. اجسام نیسل به‌ویژه در اطراف هسته از بین رفته‌اند. دانیسیته کاملاً افزایش یافته و هسته و سیتوپلاسم از یکدیگر قابل تشخیص نیست و سلول کاملاً چروکیده شده است (شکل ۳).

رنگ آمیزی انجام شد. ابتدا آنتی‌بادی اولیه پلی‌کلونال Rabbit Anti-Brain Derived neurotrophic Factor polyclonal antibody (شرکت کمیکون آمریکا) که به نسبت ۱/۵۰۰ با (فسفات بافر سالین) PBS ۰/۰۱ مولار رقیق شده بود، مورد استفاده قرار گرفت؛ همچنین آنتی‌بادی اولیه مونوکلونال Mouse anti low affinity NGF Receptor; P75^{NTR} monoclonal antibody (شرکت کمیکون آمریکا) که به نسبت ۱/۳۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

در مرحله دوم از آنتی‌بادی حاوی پراکسیداز بر علیه آنتی‌بادی اولیه استفاده گردید، یعنی:

Peroxidas conjugated goat anti Rabbit immunoglobulins (شرکت DAKO آلمان) که آن به نسبت ۱/۱۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق و مورد استفاده قرار گرفت.

Peroxidase Conjugated goat anti Mouse immunoglobulins (شرکت DAKO آلمان) که به نسبت ۱/۱۰۰ با PBS ۰/۰۱ مولار رقیق و مورد استفاده قرار گرفت.

در نهایت با بکار بردن (دی‌آمینو بنزیدین) DAB (Diaminobenzidine tetrahydro chloride) بر روی نمونه‌ها، DAB به پراکسیداز موجود در آنتی‌بادی ثانویه واکنش نشان داده و رسوب قهوه‌ای رنگی ایجاد کرد که در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد. در پایان تکنیک، سلول‌های عصبی حرکتی که با بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده P75^{NTR} واکنش نشان دادند شمارش شده، سپس میانگین و درصد آن محاسبه شد.

بررسی آماری

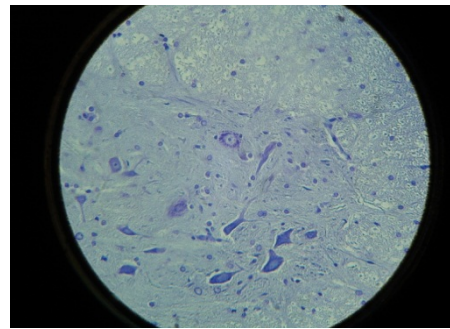
داده‌های بدست‌آمده به‌صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج از آزمون تی‌تست و آنوای یک‌طرفه با نرم‌افزار SPSSVer19 استفاده گردید. به‌علاوه اینکه سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) برای تمام آنالیزها در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی سلول‌های عصبی حرکتی نخاع حکایت از حضور سلول‌های حرکتی در شاخ قدامی طرفی نخاع دارد

کردند، نشان داد که فشار مکانیکی سبب کاهش سلول‌های عصبی حرکتی گردید (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه بین شمارش سلولی کل سلول‌های عصبی حرکتی بین دو گروه (گروه ۲ و گروه ۴) که فشار مکانیکی را دریافت نمودند با استفاده از آزمون تی تست نشان می‌دهد که در گروه درمان نشده (گروه ۴) سلول‌های عصبی حرکتی کاهش معنی‌داری دارد ($p \leq 0.05$). البته در گروهی که ۴ هفته عصاره آبی آلوئه‌ورا (گروه ۲) دریافت کردند تأثیر عصاره در حفظ سلول‌های عصبی با اختلاف معنی‌داری بیشتر است ($p \leq 0.05$) (شکل ۶).

پس از شمارش سلول‌های عصبی حرکتی در هر ۴ گروه (جدول ۱) بیشترین میزان سلول مربوط به گروه ۱ تحقیق است. این عدد به‌عنوان مبنا برای بررسی تغییرات ۳ گروه دیگر در نظر گرفته شد. البته درصد کاهش نوروئوم‌های حرکتی در گروه‌ها بدست آمد (جدول ۲).



شکل ۳- برش عرضی از بافت نخاع موش بزرگ (تصویر نوروئوم‌ها را در مراحل آپوتوز در کنار نوروئوم سالم نشان می‌دهد).
(با رنگ آمیزی کرسیل فست و ویولت و بزرگ‌نمایی ۴۰۰)

تعداد سلول‌های عصبی حرکتی در دو گروهی که هیچ‌گونه فشار مکانیکی دریافت نکردند تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. در صورتی‌که مقایسه این دو گروه (گروه ۱ و گروه ۳) با دو گروه دیگر (گروه ۲ و گروه ۴)، یعنی گروه‌هایی که به همراه عصاره آبی آلوئه‌ورا یا سرم فیزیولوژی فشار مکانیکی نیز دریافت

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار تعداد کل سلول‌های عصبی حرکتی در گروه‌ها

تحلیل آماری	میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی در بخش آسیب‌دیده	زیر گروه‌ها
$p < 0.05$	2489 ± 101	گروه ۱: تحت تیمار با تزریق روزانه عصاره آلوئه‌ورا پس از لامینکتومی
$p < 0.05$	1376 ± 135 *	گروه ۲: تحت تیمار با تزریق روزانه عصاره آلوئه‌ورا پس از لامینکتومی به همراه اعمال فشار مکانیکی بر نخاع
$p < 0.05$	2342 ± 142	گروه ۳: تزریق روزانه سرم فیزیولوژی پس از لامینکتومی
$p < 0.05$	601 ± 113 *	گروه ۴: تزریق روزانه سرم فیزیولوژی به همراه اعمال فشار مکانیکی بر نخاع

Significant ($p \leq 0.05$) = *

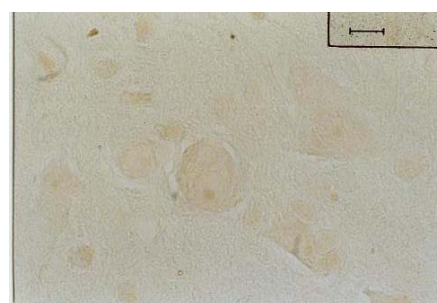
جدول ۲- درصد کاهش نوروئوم‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع

گروه‌های بررسی	درصد کاهش یا افزایش تعداد سلول‌های حرکتی نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره آلوئه‌ورا (گروه ب)
گروه ۱	۰٪
گروه ۲	۴۰/۶٪ *
گروه ۳	۵/۵٪
گروه ۴	۷۵/۵٪ *

Significant ($p \leq 0.05$) = *

مثبت بودند، شمارش گردیدند (شکل ۴ و ۵). میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی که واکنش مثبت نشان دادند در این نمونه‌ها بدست آمد (جدول ۳). با محاسبه میانگین و انحراف معیار کل سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی خارجی نخاع، درصد بیان در هر ۴ گروه مشخص شد (جدول ۴). با استفاده از آزمون آماری S-K test برای بررسی نرمالیتی، نتایج نشان می‌دهد که داده‌های گروه‌های مورد بررسی از توزیع نرمال تفاوتی ندارد ($p \leq 0.05$), بدین ترتیب با استفاده از روشهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مقایسه بین میانگین سلول‌هایی که واکنش مثبت نشان داده‌اند در هر ۴ گروه با یکدیگر انجام شد.

نتایج نشان می‌دهد که بیان نوروتروفین BDNF در گروه اول از تمام گروه‌ها با اختلاف معنی‌داری بیشتر است ($p \leq 0.05$). مقایسه بیان نوروتروفین در دو گروه اول و سوم نیز اختلاف معنی‌داری دارد. یادآور می‌گردد که این دو گروه از نظر تعداد سلول‌های عصبی حرکتی بیشترین مقدار را داشتند (جدول ۱)، در حالی که مقایسه بیان نوروتروفین BDNF بین گروه دوم و سوم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. گیرنده P75^{NTR} نیز در تمام گروه‌ها بیان گردید. گروه دوم و چهارم بیشترین میزان بیان را داشتند. البته در گروه دوم بیان گیرنده P75^{NTR} با اختلاف معنی‌دار از همه گروه‌ها بیشتر است. به عبارتی فشار مکانیکی موجب افزایش بیان گیرنده P75^{NTR} گردید.



شکل ۴- چند سلول عصبی حرکتی که با آنتی بادی علیه BDNF واکنش مثبت نشان داده‌اند (با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰)



شکل ۵- سلول عصبی حرکتی که با آنتی بادی علیه P75^{NTR} واکنش مثبت نشان داده (با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰)

در بررسی ایمنو‌هیستوشیمیایی سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی نخاع که دارای واکنش BDNF یا P75^{NTR}

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار سلول‌های عصبی حرکتی که در واکنش ایمنو‌هیستوشیمیایی پاسخ مثبت داده‌اند

گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	نوع واکنش ایمنو‌هیستوشیمیایی
۰/۳ ± ۰/۱	۵/۳ ± ۱/۳	۵/۳ ± ۲/۱	۹/۷ ± ۲/۲ *	BDNF
۲/۰ ± ۰/۲	۰/۶ ± ۰/۱	۶/۱ ± ۱/۱ *	۰/۴ ± ۰/۱	P75 ^{NTR}

Significant ($p \leq 0.05$) = *

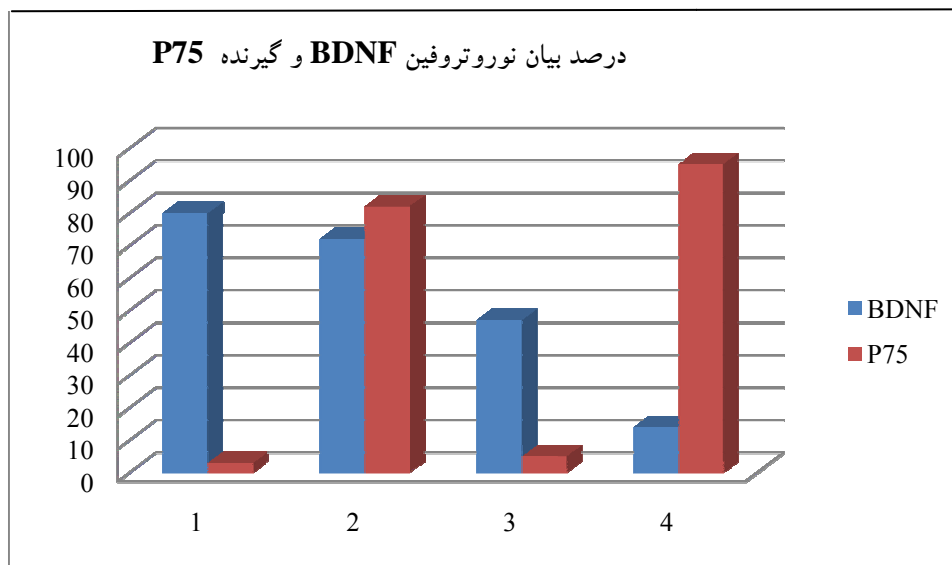
جدول ۴- درصد پاسخگویی سلول‌های عصبی حرکتی در واکنش ایمنو‌هیستوشیمیایی

نسبت به کل سلول‌های عصبی حرکتی منطقه

گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	نوع واکنش ایمنو‌هیستوشیمیایی
%۱۴/۲۸	%۴۶/۹۰	%۷۱/۶۲	%۷۹/۵۰	BDNF
%۹۵/۲۳	%۵/۳۰	%۸۲/۴۳	%۳/۲۷	P75 ^{NTR}

توسط آنتی‌بادی P75^{NTR} شناسایی شدند در گروه ۱، ۳/۲۷٪ بوده‌است و در گروه‌های ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۳۰/۴۳٪، ۵/۸۲٪ و ۹۵/۲۳٪ است (شکل ۶). البته درصد بیان گیرنده در دو گروه دوم و چهارم با اختلاف معنی داری بیشتر از دو گروه دیگر یعنی گروه‌های اول و سوم است.

نتایج نشان می‌دهد که ۷۹/۵۰٪ سلول‌های عصبی حرکتی شاخ قدامی نخاع در گروه ۱ به واکنش آنتی‌بادی علیه BDNF پاسخ مثبت داده‌اند، در حالی که در گروه ۲، ۳ و ۴ این درصد پاسخگویی به ترتیب ۹۰/۶۲، ۴۶/۷۱ و ۱۴/۲۸ است. البته درصد بیان در دو گروه اول و دوم تفاوت معنی داری ندارد. همچنین نتایج نشان می‌دهد سلول‌هایی که



شکل ۶- درصد بیان سلول‌های عصبی حرکتی که در واکنش ایمنو‌هیستوشیمیایی پاسخ مثبت داده‌اند

نشده‌است، اما شواهدی مبنی بر مرگ از نوع آپوپتوزی مشخص است. مطالعات مورفومتری با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی اجسام نیسل، نشان داد که تعداد سلول‌های عصبی حرکتی در دو گروه دوم و چهارم که فشار مکانیکی دریافت کردند کاهش معنی‌داری داشت. این کاهش در مقایسه با تعداد سلول‌ها در دو گروه ۱ و ۳ مشهود است. اثر نوروپروتکتیوی عصاره سبب حفظ سلول‌های عصبی حرکتی گردید. این نکته در مقایسه نتایج دو گروه دوم و چهارم که نخاع تحت فشار مکانیکی قرار گرفت، مشخص است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد عصاره در گروه دوم جلوی مرگ را گرفته، در حالی که گروه چهارم یعنی گروهی که سرم فیزیولوژی دریافت نمودند مرگ سلول‌های عصبی حرکتی به بیشترین میزان رسیده است. یعنی عصاره آبی آلوه‌ورا می‌تواند جلوی روند مرگ آپوپتوتیکی را تا حدی بگیرد و کاهش مرگ سلول‌های عصبی خوددلیلی بر این ادعاست. حتی مقایسه دو گروه اول و دوم تصور این‌که

بحث

از آنجایی‌که معلوم شده زمان بیان گیرنده‌ها و نوع فاکتورهایی که به‌عنوان لیگاند گیرنده نقش بازی می‌کنند کلید اصلی فعالیت گیرنده‌های سطح سلولی است. بنابراین میزان، نوع و زمان حضور نوروتروفین‌ها سبب فعالیت‌های مختلف و بعضاً متضاد گیرنده‌ها می‌شود و گیرنده‌ها نقش دوگانه خود را برای مرگ یا حیات سلول ایفا می‌کنند (Ibanez & Simi, 2012). از این رو بر آن شدید برای پی بردن به اثر عصاره آبی آلوه‌ورا در سل سیگنالی‌نگ، چگونگی بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده P75^{NTR} را بررسی کنیم.

نتایج بدست‌آمده در این تحقیق حکایت از کاهش تعداد سلول‌های عصبی حرکتی، به دلیل مرگ سلول‌های عصبی حرکتی پس از اعمال فشار مکانیکی بر نخاع دارد. البته تاکنون مکانیسم‌های دخیل در مرگ سلول‌های عصبی حرکتی پس از صدمه مکانیکی بر نخاع به خوبی شناخته

از بافت هدف یا سلول‌های اطراف ضایعه می‌باشد و از آنجایی که این عوامل نقش مؤثری در حفظ نورون‌ها دارند با اعمال فشار، تأثیر عوامل نورو تروفیکی بافت هدف یا بافت اطراف به‌روی سلول‌های موتونورون قطع یا مختل می‌شود (Sadel et al., 1999).

همانند نتایج تحقیقی که به تأثیر متفاوت دوزهای نوروتروفین می‌پردازد (Boyd & Gordon, 2002) و در تحقیقی دیگر که نتایج آن هم‌راستا با نتایج بدست‌آمده در تحقیق حاضر می‌باشد، تأثیر عصاره آبی آلوئه‌ورا به‌صورت عاملی کمکی در برگشت سلول‌ها از مرگ در روند مرگ آپوپتوتیک ذکر شد. این تأثیر از طریق مکانیسم نقل و انتقالات پیام شیمیایی به‌ویژه افزایش سیناپتوفیزین (پروتئین غشاء و زیکول سیناپسی) عنوان گردید (Heshmati et al., 2013). همچنین در تحقیق دیگری افزایش بیان گیرنده P75 را مجدداً در دوران پیری نشان داد و این افزایش بیان با افزایش بیان نوروتروفین NGF هم‌زمان گزارش گردید (Friedman, 2000).

نتایج گروه دوم متفاوت از سایر گروه‌هاست. یعنی با وجود افزایش بیان گیرنده P75 به‌دنبال فشار مکانیکی بر نخاع و مرگ سلول‌ها درصد بیان نوروتروفین BDNF نیز بیشتر است. یعنی در این گروه مرگ سلولی می‌تواند ناشی از فعالیتی غیر از مسیرهای سه گروه دیگر باشد. نتایج بدست‌آمده هم‌سو با نتایج تحقیق دیگری است که نشان داده به‌دنبال صدمات مکانیکی بر نخاع تغییراتی در بیان گیرنده‌ها و نوروتروفین‌های وابسته ایجاد می‌شود که در نمونه موش بالغ با صدمه مکانیکی بر نخاع بیان گیرنده P75 و نوروتروفین BDNF افزایش یافت (Widenfalk et al., 2001). نتایج نشان داد که بین درصد بیان نوروتروفین در بین دو گروه اول و دوم تفاوت معنی‌دار نیست. به‌طوری که در گروه دوم با وجود کاهش تعداد سلول‌ها نسبت به گروه اول درصد بیان مشابه گروه اول است. این نشان می‌دهد که در گروه دوم حدود ۷۱٪ از سلول‌های زنده باقی‌مانده به واکنش نوروتروفین واکنش مثبت نشان داده‌اند. در گروه اول ۷۹٪ از سلول‌ها پاسخ مثبت نشان دادند که از نظر آماری بین دو گروه اول و دوم تفاوت معنی‌داری نیست؛ این افزایش بیان می‌تواند ناشی از تأثیر عصاره به‌دنبال صدمه مکانیکی بر نخاع باشد. بدین ترتیب تأثیر نوروپروتکتیوی عصاره مطرح می‌گردد.

به‌گونه‌ای عصاره سبب افزایش تعداد سلول‌های عصبی حرکتی می‌گردد را امکان‌پذیر می‌کند. به‌طوری که شمارش سلولی در گروه ۱ بیشترین میزان را نشان داد ($p \leq 0.05$) و این افزایش نسبت به گروه سوم که هیچ دستکاری بجز لامینکتومی نداشتند بدون اختلاف معنی‌دار دیده شد. بنابراین فرضیه احتمال تأثیر عصاره با دوزهای مختلف بر مکانیزم حفظ و نگهداری حیات سلول در این تحقیق مطرح است.

همچنین نتایج این تحقیق هم‌راستا با نتایج تحقیقات Liu و همکاران (۱۹۹۷) است که خصوصیات مرگ سلول‌های عصبی حرکتی و سلول‌های گلیال را در صدمات مکانیکی طناب نخاعی از نوع مرگ آپوپتوتیک ارائه کرده است. نتایج تحقیق دیگری نیز وقوع آپوپتوز را به‌دنبال ضربات مکانیکی نخاع مطرح و اظهار کرده‌اند که سلول‌های آپوپتوتیک را از ۶ ساعت تا ۳ هفته بعد از ضایعه به‌خصوص در بافت سفید نخاع مشاهده کردند (Crowe et al., 1997). در راستای همین نتایج محققان دیگری نیز مرگ سلول‌های عصبی و سلول‌های گلیال را در صدمات مکانیکی طناب نخاعی از نوع مرگ آپوپتوتیک ارائه نمودند (Hains et al., 2001).

نتایج مطالعات ایمنو‌هیستوشیمیایی نشان می‌دهد که درصد پاسخگویی سلول‌های عصبی حرکتی در منطقه شاخ قدامی خارجی نخاع (جدول ۴) حکایت از اختلاف بیان نوروتروفین و گیرنده در بین ۴ گروه تحقیق دارد، به‌طوری که در گروه‌های اول، سوم و چهارم نسبت بیان نوروتروفین BDNF و گیرنده P75 به‌صورت معکوس است (جدول ۳). به‌طوری که در گروه اول بیان نوروتروفین با حداکثر میزان است. در حالی که در این گروه بیان گیرنده بسیار کم است. در گروه چهارم بعکس گروه اول میزان بیان گیرنده بیشتر از سایر گروه‌ها و میزان بیان نوروتروفین کمترین میزان است. در گروه سوم نیز به‌همین ترتیب بین بیان نوروتروفین و گیرنده رابطه معکوس است. این نتایج هم‌راستا با نتایج Scott و Ramer (۲۰۱۰) است که در گزارش خود ارتباط معکوس بین بیان گیرنده P75 را با نوروتروفین BDNF در دوران بلوغ و همچنین در دوران جنینی ارائه نمودند (Taylor et al., 2012). در دو دهه اخیر فرضیه‌ها و نظریه‌های متعددی در این زمینه ارائه شده است. در یکی از این نظریه‌ها کلید اصلی حفظ یا مرگ سلول‌های عصبی را به مکانیسم سیگنال سلولی ارتباط می‌دهد. بخشی از این گزارش‌ها معطوف به انتقال پس‌نورد عوامل تروفیکی مشتق

دوران جنینی سبب مرگ سلول‌های عصبی می‌شود که مرگ آپوپتوتیک در این دوران به علت بیان گیرنده $P75^{NTR}$ است، در حالی‌که در این زمان گیرنده تیروزینی (Trk-A) برای نوروتروفین NGF بیان نمی‌شود (Sadel *et al.*, 1999). همچنین در همین راستا مطالعات نشان می‌دهد که بیان گیرنده $P75^{NTR}$ در دوران تکوین، کمی قبل از تولد و بعد از تولد افزایش یافته و بدین ترتیب مکانیسم مرگ آپوپتوتیک سلول‌ها را تنظیم می‌کند و این گیرنده مجدداً در دوران پیری فعالیتش افزایش می‌یابد (Singh *et al.*, 2008). در همین راستا گزارش مرگ آپوپتوتیک سلول‌های اولیگوندرولگلیال‌ها را پس از ضایعه طناب نخاعی و دژنره شدن عصب محیطی مربوطه به واسطه بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و Fas نشان می‌دهد (Song *et al.*, 2004). در تأیید این نتایج بررسی نشان می‌دهد در موش‌هایی که فاقد گیرنده $P75^{NTR}$ می‌باشند پس از صدمه عصب سیاتیک مرگ آپوپتوتیک سلول‌های شوان سیاتیک دیده نمی‌شود (Longo & Massa, 2008).

بدین ترتیب گیرنده $P75^{NTR}$ نقش دوگانه‌ای نشان می‌دهد که می‌تواند سبب حفظ یا مرگ سلول عصبی شود و مطالعات در این راستا فاکتورهای نظیر نوع سلول، ساختار مولکولی و وراثتی را مؤثر می‌داند. البته نتایج تحقیقی نشان می‌دهد که گیرنده $P75^{NTR}$ نقش آپوپتوتیک خود را در وضعیت دایمر از دست می‌دهد (Zagrebelsky *et al.*, 2005).

اینک با توجه به نظرات مختلف و بعضاً متضاد در خصوص بیان گیرنده و نقش آنها که به دفعات گزارش شده است می‌توان توجیهی را در خصوص بیان گیرنده در این تحقیق ارائه نمود، که کمترین میزان بیان در گروه اول و سوم ناشی از بالا بودن میزان بیان نوروتروفین و اتصال آن به گیرنده تیروزین کیناز است (همانند شرایط عادی فعالیت سلول عصبی). در حالی که پس از اعمال فشار مکانیکی سلول‌ها دستخوش تغییراتی می‌شوند که در نهایت مرگ سلولی را به دنبال دارد و این تغییرات در گیرنده و نوروتروفین‌ها نیز اعمال می‌شود. به طوری که در گروه دوم و چهارم درصد بیان گیرنده بدون تفاوت معنی‌دار بالاست، اما در نهایت واکنشی که از سلول‌ها در پاسخ به فشار مکانیکی دیده می‌شود، متفاوت است. به طوری که در مورد سلول‌هایی که آلونوره در یافت کردند میزان مرگ کمتر است، با وجودی که بیان گیرنده مرگ بالاست. در توجیه این مطلب می‌توان

همان‌طور که ذکر شد، افزایش نوروتروفین احتمال فعال‌سازی مسیرهای دیگر را امکان‌پذیر می‌سازد. این تصور چند سالی است نظر محققان را به خود جلب کرده که مسیر فعالیت نوروتروفین‌ها از طریق اتصال به گیرنده‌های دیگر نظیر تیروزین کینازها باشد (Ichim *et al.*, 2012)، یا از سوی دیگر نقش دوگانه گیرنده $P75^{NTR}$ مطرح می‌شود که فرضیه نقش دوگانه گیرنده $P75^{NTR}$ امروزه به‌عنوان موضوعی جدید و قابل تحقیق مطرح است (Song *et al.*, 2010).

گیرنده $P75^{NTR}$ نیز در تمام گروه‌ها بیان گردید. به طوری که بیشترین درصد پاسخگویی مربوط به گروه چهارم (۹۵/۲۳٪) است. این میزان در مقایسه با گروه دوم تفاوت آماری معنی‌داری ندارد. در حالی‌که در مقایسه با گروه اول و گروه سوم تفاوت معنی‌دار است ($p \leq 0.05$)، به عبارتی کمترین میزان بیان گیرنده $P75^{NTR}$ مربوط به گروه اول (۳/۲۷٪) است. نتایج تحقیق نشان داد با وجود افزایش بیان گیرنده مرگ و نوروتروفین، در گروه دوم که فشار مکانیکی بر نخاع داشتند، مرگ سلولی کمتر است و این می‌تواند کلید حل معمای تحقیق باشد که با تأثیر عصاره آلونوره‌ها نقش دوگانه گیرنده مطرح شده و گیرنده $P75^{NTR}$ در کنار نوروتروفین BDNF می‌تواند مانع از مرگ سلول حرکتی در گروهی که فشار مکانیکی دریافت نمودند، شود. در حالی‌که در گروه چهارم فشار مکانیکی سبب افزایش بیان گیرنده $P75^{NTR}$ و مرگ سلول‌های عصبی حرکتی شد. نتایج این مطالعه هم‌راستا با مطالعاتی است که اذعان می‌کند نقش پیچیده و دوگانه این گیرنده‌ها به خوبی مشخص نیست و به دنبال اتصال نوروتروفین NGF، BDNF، NT-4/5 و NT-3 به گیرنده $P75^{NTR}$ و اتصال BDNF به طور اختصاصی به گیرنده Trk-B سبب فعال شدن مکانیسم‌های درون سلولی با طیف گسترده مرگ تا حیات را در سلول‌های عصبی موجب می‌شود (Hajebrahimi *et al.*, 2008). تحقیق دیگر نقش حفاظت‌کننده برای گیرنده $P75^{NTR}$ قائل است و عملکرد آن را در حفظ نورون مؤثر می‌داند (DeFreitas *et al.*, 2001). از طرف دیگر عده‌ای معتقدند مرگ آپوپتوتیک سلول‌های عصبی به دنبال فعال شدن گیرنده $P75^{NTR}$ است، به طوری که اتصال فاکتور نوروتروفینی PRO-NGF به گیرنده $P75^{NTR}$ سبب فعال شدن آن دسته از وقایع درون سلولی می‌شود که نهایتاً مرگ سلولی را در پی دارد (Friedman, 2000). تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهد که نوروتروفین NGF در

- mutants. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(40): 37426-37430.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1990. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone, London, 740p.
 - Boyd, J.G. and Gordon, T., 2002. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *European Journal of Neuroscience*, 15(4): 613-626
 - Chopp, M., Zhang, X.H., Li, Y., Wang, L., Chen, J., Lu, D., Lu, M. and Rosenblum, M., 2000. Spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation. *Neuro Report*, 11(13): 3001-3005.
 - Crowe, M.J., Bresnahan, J.C., Shuman, S.L., Masters, J.N. and Beattie, M.S., 1997. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nature Medicine*, 3: 73-76.
 - DeFreitas, M.F., McQuillen, P.S. and Shatz, C.J., 2001. A novel P75NTR signaling pathway promotes survival, not death, of immunopurified neocortical subplate neurons. *The Journal of Neuroscience*, 21(14): 5121-5129.
 - Dolan, E.J. and Tator, C.H., 1979. A new method for testing the force of clips for aneurysms or experimental spinal cord compression. *Journal of Neurosurgery*, 51(2): 229-233.
 - Dolan, E.J., Tator, C.H. and Endrenyi, L., 1995. The value of decompression for acute experimental spinal cord compression injury. *Journal of Neurosurgery*, 53(6): 749-755.
 - Farahnejad, Z., Ghazanfari, T. and Yaraee, R., 2011. Immunomodulatory effects of *Aloe vera* and its fractions of macrophages against *Candida albicans*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33(4): 676-681.
 - Friedman, W.J., 2000. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the P75 receptor. *The Journal of Neuroscience*, 20(17): 6340-6346.
 - Hains, B.C., Yucra, J.A. and Hulsebosch, C.E., 2001. Reduction of pathological and behavioral deficits following spinal cord contusion injury with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398. *Journal of Neurotrauma*, 18(4): 409-423.
 - Hajebrahimi, Z., Mowla, S.J., Movahedin, M. and Tavallaee, M., 2008. Gene expression alterations of neurotrophins, their receptors and prohormone convertase in a rat model of spinal cord contusion. *Neuroscience Letters*, 441(3): 261-266.
 - Heshmati, M., Jalali Nadoushan, M.R., Entezari, E. and Khodashenas, Z., 2013. The effect of aqueous extract of *Aloe vera* on synaptophysin expression after spinal cord compression in adult rats. *Journal of Medicinal Plants*, 12(46): 38-46.
 - Hulsebosch, C.E., 2002. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. *Advances in Physiology Education*, 26(1-3): 238-255.
 - Ibanez, C.F. and Simi, A., 2012. Review-P75 neurotrophin receptor signaling in nervous system injury and degeneration: paradox and opportunity. *Trends in Neurosciences*, 35(7): 431-440.

به نقش دیگر گیرنده که به‌عنوان گیرنده حفظ سلولی است یا فعال شدن گیرنده‌های تیروزینی، اشاره نمود. یعنی گروه دوم که آلوئه‌ورا دریافت کردند میزان نوروتروفین به‌طور معنی‌داری بیشتر شد و در گروه سوم نیز این افزایش مشاهده شد و شاید همین افزایش نوروتروفین سبب فعال شدن گیرنده‌های دیگر نظیر تیروزین کیناز می‌شود، به‌طوری که فعالیت این گیرنده روند مرگ سلولی را کاهش می‌دهد. از آنجایی که در تمام نمونه‌های بررسی شده حضور گیرنده مرگ در سلول‌های عصبی حرکتی مشخص است، این احتمال را می‌توان داد که حضور گیرنده‌هایی از خانواده تیروزین کیناز بیشتر مطرح است. همچنین در خصوص تأثیر عصاره آبی آلوئه‌ورا، نتایج این تحقیق هم‌راستا با نتایج تحقیقاتی است که تأثیر آلوئه‌ورا را در فعالیت گیرنده‌ها و انتقالات نوروترنسمیترهای سطح غشاء سلول گزارش کرده است (Heshmati *et al.*, 2013). برای طیف گسترده اثرات گیاه آلوئه‌ورا، فرضیه‌هایی مبنی بر تأثیر در روند ترمیم و بهبودی زخم مطرح است، ولی اینکه با چه مکانیسمی روی حفظ یا جلوگیری از مرگ تأثیر دارد تاکنون مشخص نشده است.

پیشنهادها

از آنجایی که در هر سلول امکان حضور دو نوع گیرنده است و برابری عملکرد این دوگیرنده سبب مرگ یا حیات سلول عصبی می‌شود، بنابراین احتمال این وجود دارد که عصاره آبی آلوئه‌ورا سبب افزایش میزان بیان گیرنده تیروزینی گردد. برای اثبات این فرضیه پیشنهاد می‌شود عصاره آبی آلوئه‌ورا در دوزهای مختلف بر روی سایر گیرنده‌های سطح سلولی و لیگاندهای اختصاصی آنها بررسی شود.

منابع مورد استفاده

- Akhtar, A.Z., Pippin, J.J. and Sandusky, C.B., 2009. Animal studies in spinal cord injury: a systematic review of methylprednisolone. *Alternatives to Laboratory Animals*, 37: 43-62.
- Ameloot, P., Fiers, W., De Bleser, P., Ware, C.F., Vandenabeele, P. and Brouckaert, P., 2001. Identification of tumor necrosis factor (TNF) amino acids crucial for binding to the murine P75 TNF receptor and construction of receptor-selective

- Song, X.Y., Zhong, J.H., Wang, X. and Zhou, X.F., 2004. Suppression of p75^{ntr} does not promote regeneration of injured spinal cord in mice. *The Journal of Neuroscience*, 24(2): 542-546.
- Song, W., Volosin, M., Cragolini, A.B., Hempstead, B.L. and Friedman, W.J., 2010. ProNGF induces PTEN via p75^{NTR} to suppress Trk-mediated survival signaling in brain neurons. *The Journal of Neuroscience*, 30(46): 15608-15615.
- Taylor, A.R., Gifondorwa, D.J., Robinson, M.B., Strupe, J.L., Prevette, D., Johnson, J.E., Hempstead, B., Oppenheim, R.W. and Milligan, C.E., 2012. Motoneuron programmed cell death in response to proBDNF. *Developmental Neurobiology*, 72(5): 699-712.
- Widenfalk, J., Lundströmer, K., Jubran, M., Brene, S. and Olson, L., 2001. Neurotrophic factors and receptors in the immature and adult spinal cord after mechanical injury or kainic acid. *Journal of Neuroscience*, 21(10): 3457-3475.
- Xie, Y., Yao, Z., Chai, H., Wong, W.M. and Wu, W., 2003. Expression and role of low-affinity nerve growth factor receptor (p75) in spinal motor neurons of aged rats following axonal injury. *Developmental Neurobiology*, 25: 65-71.
- Yu, M., Bergman, E., Edstrom, E. and Ulfhake, B., 1999. Reciprocal changes in the expression of neurotrophin mRNA target tissues and peripheral nerves of aged rats. *Neuroscience Letters*, 273(3): 187-90.
- Zagrebelsky, M., Holz, A., Dechant, G., Barde, Y.A., Bonhoeffer, T. and Korte, M., 2005. The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 25(43): 9989-9999.
- Ichim, G., Tauszig-Delamasure, S. and Mehlen, P., 2012. Neurotrophins and cell death. *Experimental Cell Research*, 318(11): 1221-1228.
- Jacobson, M., Weil, M. and Raff, M.C., 1997. Programmed cell death in animal development. *Cell*, 88(3): 347-354.
- Le, T.H. and Gean, A.D., 2009. Neuroimaging of traumatic brain injury. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 76(2): 145-162.
- Liu, X.Z., Xu, X.M., Hu, R., Du, C., Zhang, S.X., McDonald, J.W., Dong, H.X., Wu, Y.J., Fan, G.S., Jacquin, M.F., Hsu, C.Y. and Choi, D.W., 1997. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience*, 17(14): 5395-5406.
- Longo, F.M. and Massa, S.M., 2008. Small molecule modulation of p75 neurotrophin receptor functions. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, 7: 63-70.
- Loots du, T., van der Westhuizen, F.H. and Botes, L., 2008. *Aloe ferox* leaf gel phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17): 6891-6896.
- Sadel, F., Bechade, C. and Triller, A., 1999. Nerve growth factor induces motoneuron apoptosis in rat embryonic spinal cord in vitro. *European Journal of Neuroscience*, 11(11): 3904-3912.
- Scott, A.L.M. and Ramer, M.S., 2010. Differential regulation of dendritic plasticity by neurotrophins following deafferentation of the adult spinal cord is independent of p75^(NTR). *Brain Research*, 1323: 48-58.
- Singh, K.K., Park, K.J., Hong, E.J., Kramer, B.M., Greenberg, M.E., Kaplan, D.R. and Miller, F.D., 2008. Developmental axon pruning mediated by BDNF-p75^{NTR}-dependent axon degeneration. *Nature Neuroscience*, 11(6): 649-658.

Effect of aqueous extract of *Aloe vera* L. on the expression of P75^{NTR} and BDNF after spinal cord compression in adult rats

M. Heshmati^{1*}, M.R. Jalali Nadoushan² and S. Fakhrieh³

1*- Corresponding author, Department of Anatomy and Pathology, Shahed University, Tehran, Iran

E-mail: heshmati@shahed.ac.ir, heshmatimarjan@hotmail.com

2- Department of Anatomy and Pathology, Shahed University, Tehran, Iran

3- Medical Graduate, Shahed University, Tehran, Iran

Received: December 2012

Revised: June 2013

Accepted: July 2013

Abstract

This research was aimed to evaluate the effects of aqueous extract of *Aloe vera* L., on motoneuron survival, P75^{NTR} and BDNF expression. Twenty-Four Sprague-Dawley rats were obtained from Razi Institute. They were divided into four groups: 1-laminectomy ((T9-T11 vertebra)+injection of *Aloe vera* extract. 2- laminectomy+injection *Aloe vera* extract+compression. 3- laminectomy+injection of saline normal. 4- laminectomy+injection of normal saline + compression. Intrapituneal injection continued for four weeks. After four weeks, they were sacrificed. Spinal cord motoneurons were counted and their morphometry was studied. Expression P75^{NTR} and BDNF were analyzed by immunohistochemistry. Results showed that compression caused motoneurons reduction with hematoma among the cells and in cavitation. The aqueous extract of *Aloe vera* caused to decrease the motoneurons death and increase the BDNF expression ($p \leq 0.05$). In the second group, despite increasing expression of P75^{NTR}, motoneuron death decreased significantly ($p \leq 0.05$) which may be due to the dual role of the receptor or various properties of *Aloe vera*. The immunomodulatory effect of *Aloe vera* and multiple action of P75 in survival or motoneuron death in different times of life were confirmed in this research.

Keywords: Mechanical spinal cord injury, aqueae extract of *Aloe vera* L., P75^{NTR} receptor, BDNF.